

VIVIAN DE SOUZA MENEGASSI

**RESPOSTA À CORTICOTERAPIA SISTÊMICA ORAL
NAS EXACERBAÇÕES MODERADAS A GRAVES DE
ASMA: INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DE EOSINOFILIA
NO ESCARRO INDUZIDO**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para conclusão
do Curso de Graduação em Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2004**

VIVIAN DE SOUZA MENEGASSI

**RESPOSTA À CORTICOTERAPIA SISTÊMICA ORAL
NAS EXACERBAÇÕES MODERADAS A GRAVES DE
ASMA: INFLUÊNCIA DA PRESENÇA DE EOSINOFILIA
NO ESCARRO INDUZIDO**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para conclusão
do Curso de Graduação em Medicina.**

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Edson José Cardoso
Orientador: Dr. Emilio Pizzichini
Co-orientadores: Dra. Leila John Marques Steidle
Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini

Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2004

Menegassi, Vivian de Souza.

Resposta à Corticoterapia Sistêmica Oral nas Exacerbações Moderadas a Graves de Asma: Influência da Presença de Eosinofilia no Escarro Induzido / Vivian de Souza Menegassi. - Florianópolis, 2004.

36 p.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Federal de Santa Catarina - Curso de Graduação em Medicina.

1. Asma 2. Corticoterapia 3. Escarro 4. Eosinofílico 5. Não-eosinofílico I. Título

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ângela Maria Mendes de Souza Menegassi e João Amancio dos Santos Menegassi, e ao meu irmão, Thiago de Souza Menegassi, que sempre estiveram do meu lado torcendo pelo meu sucesso. Eu os amo muito.

Aos meus avós, Ary Menegassi, Eulyta Setembrina Menegassi e Maria Dora Mendes de Souza, que sempre tiveram orgulho em dizer “minha neta vai ser médica”. Obrigada por me apoiarem por todos estes anos.

A Joenio Costa da Silva Júnior, pelas palavras de incentivo e amor nos momentos mais difíceis desta caminhada.

Aos meus orientadores, Dr. Emilio Pizzichini, Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini e especialmente Dra. Leila John Marques Steidle, que me ensinaram a arte da pesquisa e além de grandes mestres foram meus grandes amigos.

A todos do NUPAIVA, Cristiane Cinara Rocha, Janara Voltolini, Nazaré Otília Nazário, Célia Tânia Zimmermman, Juliana Kadletz da Silva, Marcello Bini, Gustavo Phillipi de Los Santos e Ricardo Ximenes Malinverni, que ajudaram na construção deste trabalho. Vocês são especiais.

À minha turma de faculdade, que me trouxe momentos de alegria e me ensinou que somos todos parte de uma grande equipe.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
SUMMARY.....	v
1.INTRODUÇÃO.....	01
2.OBJETIVOS.....	06
2.1Primário.....	06
2.2.Secundário.....	06
3.METODOLOGIA.....	07
3.1 Participantes.....	07
3.2 Delineamento do estudo.....	09
3.3 Procedimentos clínicos e laboratoriais.....	10
3.4 Análise estatística.....	13
4.RESULTADOS.....	14
5. DISCUSSÃO.....	21
6.CONCLUSÕES.....	25
7.REFERÊNCIAS.....	26
NORMAS ADOTADAS.....	30

RESUMO

Introdução: Corticosteróides sistêmicos são drogas de escolha no tratamento das exacerbações de asma. Postula-se que asma associada à presença de eosinofilia no escarro (eosinófilos $\geq 3\%$) apresente melhor resposta à corticoterapia.

Objetivo: Observar a resposta à corticoterapia sistêmica oral nas exacerbações moderadas a graves de asma conforme a presença de eosinofilia no escarro medida pelo uso de broncodilatador de curta duração, escore do questionário de controle de asma e volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF₁) pós-broncodilatador.

Método: Cinquenta exacerbações moderadas a graves de asma, ocorridas em 46 participantes atendidos no Hospital Universitário e que concordaram em participar do estudo, foram avaliadas. Todos os participantes responderam ao questionário de controle de asma, realizaram espirometria e exame de indução de escarro antes e após 7 dias de corticoterapia sistêmica oral.

Resultados: A maioria das exacerbações foi eosinofílica (74%). Independentemente da presença de eosinofilia no escarro, corticoterapia sistêmica oral resultou em melhora significativa dos desfechos investigados. Indivíduos exacerbados com eosinofilia no escarro apresentaram melhora significativamente mais expressiva do escore do questionário de controle de asma e do volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF₁) pós-broncodilatador e diminuição significativa e mais evidente da proporção de eosinófilos no escarro e número de eosinófilos no sangue periférico após corticoterapia.

Conclusões: Ausência de eosinofilia no escarro em exacerbações moderadas a graves de asma está associada a uma resposta menos evidente à corticoterapia sistêmica oral quando avaliada pelo escore do questionário de controle de asma e volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF₁) pós-broncodilatador.

SUMMARY

Introduction: Systemic steroids are the treatment of choice for asthma exacerbations. It is suggested that asthma with sputum eosinophilia (eosinophils $\geq 3\%$) show a better response to corticotherapy.

Objective: To evaluate the clinical response to oral steroids in the moderate to severe asthma exacerbations with or without sputum eosinophilia, measuring the use of broncodilator of short duration, asthma control questionnaire score and post-broncodilator forced expiratory volume in the first second (VEF₁).

Method: Fifty episodes of moderate to severe asthma exacerbations, occurred in 46 patients attended in a University Hospital and that agreed to participate, were evaluated. They all answered the asthma control questionnaire, had measurements of spirometry and induced sputum cell counts before and after 7 days of oral systemic corticotherapy.

Results: The majority of the exacerbations was eosinophilic (74%). Regardless the presence of sputum eosinophilia, moderate to severe asthma exacerbations showed significant improvement. Exacerbations with sputum eosinophilia showed greater clinical improvement in asthma control questionnaire score and post-broncodilator forced expiratory volume in the first second (VEF₁) and more evident reduction of eosinophilia in sputum and number of eosinophils in peripheral blood after corticotherapy.

Conclusion: Absence of sputum eosinophilia in moderate to severe asthma exacerbations is associated with a less evident clinical response to oral systemic corticotherapy as measured by asthma control questionnaire score and post-broncodilator forced expiratory volume in the first second (VEF₁).

1. INTRODUÇÃO

A asma brônquica é uma doença já relatada no passado através de escritos que remontam, pelo menos, ao ano 5000 antes de Cristo. Definições iniciais consideravam-na uma patologia crônica limitada ao músculo brônquico. Nos últimos vinte anos, desenvolveu-se a idéia da asma como uma doença inflamatória crônica das vias aéreas. Hoje, a presença desta inflamação faz parte do conceito atual de asma sendo considerada fator primário em sua fisiopatologia. Através do processo inflamatório, a asma manifesta-se por: episódios recorrentes de dispnéia, opressão torácica, tosse e sibilância, especialmente à noite e ao despertar pela manhã; limitação reversível ao fluxo de ar e aumento da responsividade das vias aéreas.

Nas últimas décadas, grandes avanços ocorreram quanto ao entendimento mais claro sobre a patogênese da asma com conseqüente desenvolvimento de novas linhas terapêuticas e melhoria na monitoração dos pacientes. Apesar disso, as taxas de morbidade e mortalidade por asma vêm apresentando considerável aumento. As razões do aumento da prevalência da asma ainda são desconhecidas. É possível que tanto fatores hereditários quanto fatores ambientais como maior exposição intradomiciliar a antígenos, poluição tabágica entre outros, estejam envolvidos. A Teoria da Higiene, apesar de resultados ainda contraditórios, tenta explicar a prevalência da asma no mundo moderno considerando que uma maior exposição antigênica precoce resultaria em menor atopia. Ou seja, infecções ainda na infância atuariam como “proteção” no desenvolvimento da asma ¹. No que se refere à mortalidade devido à asma, a taxa mundial alcançou mais de 180.000 pessoas por ano no final da década de 90. Embora pequeno, este número de eventos facilmente preveníveis, vem crescendo estatisticamente em diversos países ².

Dados recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram que 100 a 150 milhões de indivíduos de todo o mundo são portadores de asma, correspondendo a uma incidência que varia entre 10-15% ³. O estudo multinacional ISAAC (International Study of

Asthma and Allergies in Children) realizado em diversas cidades brasileiras demonstrou uma prevalência média sintomas de asma de 19,85% em crianças entre 6-7 anos e 13-14 anos, situando o Brasil entre os oito primeiros no ranking mundial ⁴. Apesar de poucos estudos brasileiros demográficos de grande amplitude, estima-se que cerca de 7 a 10% da população tenha asma. A asma é considerada importante problema de Saúde Pública no Brasil, sendo a quarta causa de internação pelo Sistema Único de Saúde (SUS), o que corresponde a 4 % do total, excluindo internações relacionadas ao parto e puerpério. Levando-se em consideração estes dados além do alto custo gerado, tem surgindo a necessidade crescente de uma ação que torne o Plano Nacional de Controle de Asma (PNCA) uma realidade na prática, além de uma melhor compreensão sobre a fisiopatologia da asma brônquica através de estudos intensivos nesta área ⁵.

Apesar de não existir uma definição consensual e definitiva de asma, um conceito mais atualizado foi proposta pelo GINA (Global Initiative for Asthma) tentando defini-la de forma mais ampla e abrangente: “Asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas na qual vários tipos de células estão envolvidas principalmente eosinófilos, mastócitos e linfócitos tipo T. Em indivíduos suscetíveis, a inflamação causa episódios recorrentes de sibilos, dispnéia, opressão torácica, tosse noturna ou matinal. Estes sintomas são geralmente acompanhados de limitação variável ao fluxo de ar que é, pelo menos em parte, revertido de forma espontânea ou com tratamento. A inflamação também leva a um aumento da responsividade das vias aéreas a diferentes estímulos” ⁶.

As primeiras evidências de que a asma apresenta um componente inflamatório surgiram há mais de 100 anos através de achados de autópsia de pacientes com asma exacerbada relatados por Osler. Curiosamente, estes achados foram atribuídos ao processo *post-mortem* ⁷. A partir da década de 80, com a introdução de técnicas como a broncofibroscopia que permitiram a obtenção de espécimes de tecido brônquico obtido por biópsia e líquido alveolar obtido pelo lavado bronco-alveolar (LBA), ficou clara a relação entre a inflamação e a asma *in vivo* ⁸.

Atualmente, a inflamação na asma tem sido caracterizada como um complexo e heterogêneo processo composto por células inflamatórias como eosinófilos, mastócitos, linfócitos e neutrófilos e onde vários mediadores pró-inflamatórios estão envolvidos. Uma cascata de eventos é ativada por estes elementos resultando em lesões e alterações das células epiteliais brônquicas, mudanças na permeabilidade vascular, hipersecreção de muco, disfunção ciliar, espessamento da membrana basal, hipertrofia da musculatura lisa brônquica, anormalidades no controle neural autonômico e tônus das vias aéreas além de aumento na reatividade da musculatura lisa dos brônquios ^{2, 8, 9, 10}. Vale destacar o papel dos eosinófilos como células efetoras marcantes na patogênese da asma produzindo grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias e liberando proteínas ativas como proteína eosinofílica catiônica (ECP) dentre outras, todas com ações lesivas sobre o epitélio brônquico.

Na visão dos pacientes, os parâmetros mais importantes no controle da asma são os sintomas, limitação das suas atividades e repercussão emocional. Entretanto, tem sido observado que uma avaliação clínica isolada não reflete de maneira adequada dados sobre a inflamação vigente nas vias aéreas dos asmáticos. Achados corroboram a recomendação do GINA de que a avaliação do paciente asmático deveria ser expandida considerando uma monitoração direta da inflamação das vias aéreas oferecendo dados considerados inacessíveis através de uma avaliação clínica e fisiológica. Parâmetros como documentação do tipo e intensidade do processo inflamatório, possíveis causas de exacerbações e resposta ao tratamento adotado poderiam ser registrados e monitorados ⁶.

A necessidade de métodos menos invasivos, mais baratos, seguros e de fácil utilização na prática é cada vez maior. A partir disso, nos últimos anos, técnicas envolvendo a medida da inflamação das vias aéreas no escarro induzido, no ar expirado e no ar condensado têm sido descritas na literatura como promissoras para a análise dos marcadores inflamatórios da asma ¹¹.

A partir de 1989, o exame de escarro para marcadores inflamatórios vem sendo utilizado na pesquisa clínica e na prática médica permitindo monitorar de forma direta e menos invasiva

a resposta inflamatória das vias aéreas através da análise celular e de outros marcadores pró-inflamatórios ^{12, 13, 14}. O método de indução de escarro foi desenvolvido a partir da necessidade de se obter material de pacientes incapazes de expectorar espontaneamente. Atualmente, o exame do escarro induzido tem sido considerado o método que melhor reflete o processo inflamatório nas vias aéreas ¹⁴, sendo minimamente invasivo, de simples realização, reprodutível ¹⁵, válido ¹⁵, responsivo ¹⁶ e seguro podendo ser utilizado inclusive em situações de exacerbações asmáticas agudas e graves ¹⁶.

Existem evidências crescentes da importância do eosinófilo no processo inflamatório da asma. Hoje, esta célula é considerada como o principal marcador da inflamação na asma diferenciando indivíduos asmáticos dos saudáveis ^{17, 18}. Entretanto, estudos mais recentes realizados relatam que indivíduos asmáticos exacerbados apresentam mecanismos inflamatórios heterogêneos nem sempre associados à presença de eosinófilos. O estudo de Turner e colaboradores observou que nem todos indivíduos com exacerbações moderadas dos sintomas de asma apresentavam eosinofilia no escarro ¹⁹. Pizzichini e colaboradores sugeriram em seu trabalho que há uma inflamação predominantemente neutrofílica em asmáticos com exacerbações moderadas a graves associadas a viroses ²⁰. Analisando indivíduos exacerbados, o trabalho de Fahy e colaboradores concluiu que há um predomínio de neutrófilos em crises de asma e que isto pode estar relacionado com a presença freqüente de infecções do trato respiratório como desencadeante destas crises ²¹. A importância destes achados está relacionada com um melhor entendimento das diferentes características inflamatórias dentro de uma mesma patologia.

Apesar do ampliado leque de recursos disponíveis no momento, os corticosteróides representam a droga mais importante no tratamento e prevenção de exacerbações de asma. É consenso que o tratamento das exacerbações deva ser direcionado primariamente à redução do processo inflamatório das vias aéreas através da introdução precoce desta droga resultando em diminuição da sintomatologia e melhora da função pulmonar ^{22, 23, 24}. O corticosteróide atua diretamente no núcleo celular aumentando a transcrição de genes antiinflamatórios. Entretanto, o seu principal efeito está na desativação de múltiplos genes inflamatórios

responsáveis pela produção de diversas citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão e enzimas ^{2, 25}.

Na literatura, dados demonstram que a eosinofilia no escarro é reduzida de maneira expressiva com a utilização de corticosteróide em situações de exacerbações de asma ^{13, 26}. Por outro lado, uma elevação precoce deste marcador pode ser observada quando da retirada desta droga em pacientes asmáticos dependentes de prednisona ²⁷. Pizzichini e colaboradores investigaram a resposta ao corticosteróide oral em exacerbações graves de asma. Apesar de uma pequena amostra de 10 participantes, este estudo observou que um indivíduo apresentava inflamação não-eosinofílica e que este não mostrou resposta esperada à corticoterapia ¹⁶. Da mesma forma, ao investigar 23 indivíduos com asma não controlada, Pavord e colaboradores sugeriram que asma não controlada com padrão não-eosinofílico apresentam uma resposta pobre à corticoterapia ¹³.

Este estudo tem como propósito investigar a influência da presença de eosinofilia nas exacerbações moderadas a graves de asma na resposta ao uso de um corticosteróide sistêmico oral na dose de 30 mg/dia de prednisona por 7 dias ou equivalente.

2. OBJETIVOS

2.1 Primário

Avaliar a resposta à corticoterapia sistêmica oral nas exacerbações moderadas a graves de asma de acordo com a presença de eosinofilia no escarro induzido medida através dos seguintes parâmetros clínicos e fisiológicos:

- Uso de broncodilatador de curta duração (BD).
- Escore do Questionário de Controle de Asma (QCA).
- Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo pós-broncodilatador em litros [VEF₁pBD(L)] e em valor percentual [(VEF₁pBD(%))].

2.2 Secundário

Avaliar a resposta à corticoterapia sistêmica oral nas exacerbações moderadas a graves de asma de acordo com a presença de eosinofilia no escarro induzido medida através dos seguintes parâmetros inflamatórios:

- Proporção de eosinófilos no escarro induzido.
- Número absoluto de eosinófilos no sangue periférico.

3. MÉTODO

3.1 Participantes

O protocolo do estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Indivíduos que apresentaram exacerbação aguda de intensidade moderada ou grave de asma atendidos no ambulatório de Pneumologia ou no Serviço de Emergência Médica localizados no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago - UFSC) foram encaminhados para o Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas (NUPAIVA/UFSC) no período de setembro/2001 a agosto/2003. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre esclarecido.

Foram incluídos, sucessivamente, 46 adultos de ambos os sexos, com idade entre 18 e 60 anos, com diagnóstico prévio de asma brônquica, não fumantes, ex-fumantes por mais de um ano ou fumantes com carga tabágica inferior a 10 maços/ano. As características dos participantes ao serem incluídos neste estudo estão sumarizadas na tabela 1.

TABELA 1 - Características dos participantes.

	Total
Participantes, n	46
Idade, anos*	36.32 (13.4)
Sexo masculino, n (%)	20 (40.0)
Tabagismo, atual/ex (n/n)	3/15
História de atopia, n (%)	40 (80.0)
Em uso de CI, n (%)	21(42.0)
VEF₁pBDL*	1.71 (0.5)
VEF₁pBD% previsto*	52.28 (11.2)
Δ % no VEF₁*	24.24 (18.2)

Dados expressos pela * média e desvio padrão (DP); n = número absoluto; % = percentual; CI = corticosteroide inalatório; VEF₁pBDL = volume expiratório forçado no 1º segundo pós-broncodilatador em litros; VEF₁pBD% = volume expiratório forçado no 1º segundo pós-broncodilatador em percentual; Δ = variação percentual após uso de broncodilatador. Valores de VEF₁% de acordo com valores preditos de Crapo²⁸.

A asma foi caracterizada clinicamente pela presença de sintomas episódicos de sibilância, tosse, opressão torácica e dispnéia no último ano. A confirmação objetiva do diagnóstico foi feita através de espirometria demonstrando um aumento do VEF₁ (volume expiratório forçado

no primeiro segundo) de pelo menos 12% ou 200 ml 10 minutos após inalação de 200µg de broncodilatador de curta duração (salbutamol).

Exacerbações moderadas de asma foram definidas clinicamente por aumento dos sintomas associado ou não a despertares noturnos frequentes e/ou necessidade crescente de broncodilatador de curta duração para alívio sintomático, VEF₁ pós-broncodilatador < 70% do previsto após a inalação de 2 jatos de salbutamol (200 µg) e necessidade de tratamento com um corticosteróide sistêmico oral após avaliação médica. Exacerbações graves de asma foram definidas através das características clínicas acima citadas, porém, considerando VEF₁ pós-broncodilatador < 60% do previsto após a inalação de 2 jatos de salbutamol (200 µg) ¹⁶.

Foram excluídos os participantes com história de doenças pulmonares crônicas conhecidas (bronquite crônica, enfizema pulmonar, etc), doenças graves de outros aparelhos ou sistemas ou uso de medicações que pudessem interferir nos resultados. Também foram excluídos pacientes com história de tabagismo com quantidade superior a 10 maços/ano e gestantes ou nutrízes.

3.2 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo clínico com intervenção onde os participantes incluídos foram avaliados pré-intervenção (V1) e pós-intervenção (V2). A intervenção consistiu em tratamento com corticosteróide sistêmico oral na dose de 30 mg/dia de prednisona ou equivalente por 7 dias. A primeira dose foi administrada logo após a indução do escarro e coleta do sangue periférico no dia de inclusão do estudo.

Neste estudo, não foi utilizado placebo por ser considerado antiético, uma vez que hoje, os corticosteróides sistêmicos são consideradas indispensáveis no tratamento de pacientes

asmáticos exacerbados. Nenhum paciente havia recebido corticosteróide sistêmico oral ou parenteral antes das medidas iniciais. O tratamento da exacerbação foi iniciado e concluído sem que o investigador e o paciente conhecessem os resultados do exame do escarro. Se na opinião do investigador havia indícios clínicos de processo infeccioso, antibioticoterapia era associada à corticoterapia. Todos os participantes permaneceram no NUPAIVA/UFSC por um período de pelo menos 6 horas após início da corticoterapia para garantir que não houvesse deterioração do quadro clínico. O processamento do material obtido no exame do escarro foi realizado sem o conhecimento das características clínicas dos participantes.

3.3 Procedimentos clínicos e laboratoriais

Após uma explicação detalhada do estudo e assinatura no termo de consentimento, os participantes foram avaliados em duas visitas.

Na V1, os participantes foram submetidos aos seguintes procedimentos: 1. Anamnese incluindo sintomas respiratórios, características da sua exacerbação, infecção das vias aéreas associada e história de atopia; 2. exame físico; 3. preenchimento de uma escala específica e validada sobre “História e Gravidade dos Sintomas de Gripe ou Resfriado”²⁹; 4. avaliação dos sintomas respiratórios da última semana medida por uma da escala de Likert com pontuação variando de 1 (desconforto extremo) a 7 (nenhum desconforto) relacionados a 5 itens³⁰; 5. preenchimento do Questionário de Controle de Asma (QCA)^{31, 32}; 6. realização de espirometria com prova broncodilatadora; 7. obtenção de escarro através de exame de indução; 8. coleta do sangue periférico e 9. realização de radiografia do tórax e dos seios da face.

Na V2, os pacientes foram submetidos aos seguintes procedimentos: 1. Breve anamnese dos sintomas respiratórios atuais; 2. exame físico; 3. preenchimento do QCA; 4. realização de

espirometria com prova broncodilatadora; 5. obtenção de escarro através de exame de indução e 6. coleta do sangue periférico.

Questionário de Controle de Asma (QCA)

O QCA é um questionário validado com o objetivo de avaliar o grau de controle de asma do indivíduo sendo constituído por 6 perguntas objetivas e auto-explicativas a serem respondidas pelo participante e uma medida objetiva a ser preenchida pelo pesquisador (VEF₁ pré-broncodilatador expresso em percentual do predito). Cada quesito tem como resposta máxima um escore de 6 pontos e avalia sintomas, uso de broncodilatador de curta duração e intensidade da limitação ao fluxo de ar das vias aéreas. Considera-se asma não controlada quando o valor total do escore do questionário dividido por 7 é > 2 ^{31, 32}.

Espirometria

A espirometria com prova broncodilatadora foi realizada seguindo especificações da American Thoracic Society (ATS)³³ utilizando-se um espirômetro computadorizado (Koko® Spirometer, PDS Instrumentation, Louisville, USA). O VEF₁ basal foi obtido entre os três melhores valores diferindo entre si em menos que 0,15 L. A reversibilidade foi comprovada 10 minutos após a inalação de 200 µg de salbutamol liberados através de um dispositivo pressurizado dosimetrado e administrados com auxílio de um espaçador (Aerochamber®, Trudell Medical International, London, On, Canada).

Indução do escarro

A indução do escarro foi realizada seguindo um método modificado para pacientes com intensa limitação ao fluxo de ar. O procedimento consistiu da inalação de um aerossol de solução salina isotônica (0,9%) seguida por solução salina hipertônica (3, 4 e 5%), produzido por um nebulizador ultra-sônico Fisoneb® (Canadian Medical Products, Ltd., Markham, Ontario). A inalação do aerossol foi mantida inicialmente por 1 minuto, seguida de inalações que duraram 2, 4 ou 7 minutos com posterior registro do VEF₁. O participante do estudo foi instruído a tossir e expectorar o escarro em um pequeno recipiente estéril. Estes procedimentos foram consecutivamente repetidos aumentando a concentração da solução a cada 7 minutos até completar o total de 21 minutos ou até que ocorresse queda do VEF₁ de 20% ou mais em relação ao valor basal do indivíduo ¹⁶.

Processamento do escarro

O processamento do escarro foi realizado no prazo máximo de 2 horas, conforme previamente descrito. O escarro foi separado da saliva com o objetivo de diminuir a contaminação por células escamosas presentes no expectorado. O material, já selecionado, foi colocado em um tubo de poliestireno de 15 ml e tratado com substância mucolítica, ditioneitol (DTT) a 0,1% (Sputalysin 10%; Calbiochen Corp., San Diego, CA). Em seguida, a solução foi agitada por 15 segundos sendo consecutivamente aspirada e ejetada através de uma pipeta de Pauster, sendo então, colocada em um agitador de mesa por mais 15 minutos (Dade Tube Rocker, Baxter Diagnostics Corporation, Miami, FL). Após isso, foi adicionada solução salina tamponada em fosfato de Dulbecco (D-PBS). A suspensão obtida foi filtrada em um filtro de nylon com microporos de 48 µm (BBS Thompson, Scarborough, Ontario) com o objetivo de remover restos celulares e muco ainda não dissolvido. Logo após, a contagem total de células

(CTC) foi realizada excluindo as células escamosas mortas (coradas pelo corante *trypan blue*) com o uso de um hemocitômetro de Neubauer. A suspensão foi centrifugada para obter o sobrenadante e citospinas. Após secarem ao ar livre, as citospinas foram preparadas para a contagem celular diferencial com o uso de corante de Giemsa. Foram contadas 400 células não-escamosas na lâmina de melhor qualidade. Os resultados foram expressos como percentagem do total de células não-escamosas ¹⁴.

Consideramos o escarro eosinofílico quando a contagem diferencial de eosinófilos é $\geq 3\%$, e neutrofílico quando a contagem diferencial de neutrófilos é $\geq 65\%$. Estes pontos de corte foram estabelecidos com base nos valores normais relatados por Belda e colaboradores ³⁴.

3.4 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada pelo programa estatístico SPSS para Windows 7.0.

Dados com distribuição normal se encontram expressos como média e desvio padrão (DP) e os de distribuição não normal como mediana e amplitude de semiquartil (ASQ). Diferenças entre os grupos eosinofílico e não-eosinofílico foram analisadas pelo teste t não-pareado. Diferenças dentro de cada grupo (V2 – V1) foram analisadas pelo teste t pareado. Variáveis categóricas foram analisadas pelo teste do qui-quadrado. Variáveis de distribuição não-normal (eosinófilos) sofreram transformação logarítmica antes da análise. Valores de p inferiores a 0.05 foram considerados significantes. A concordância entre a presença de eosinofilia no escarro e no sangue periférico foi analisada através do coeficiente Kappa (K) cujo grau de concordância foi mensurado conforme Altman: < 0.20 = ruim, $0.21 - 0.40$ = aceitável, $0.41 - 0.60$ = moderado, $0.61 - 0.80$ = bom e $0.81 - 1.00$ = muito bom. ³⁵.

4. RESULTADOS

Foram avaliadas 50 exacerbações moderadas a graves de asma neste estudo a partir de 46 indivíduos. Do total de 50 participantes incluídos na V1, dois participantes foram excluídos devido à impossibilidade de produzir escarro espontâneo ou induzido e dois participantes não compareceram na V2. Quatro participantes apresentaram dois episódios distintos de exacerbações com intervalo de tempo maior do que 60 dias.

As características das 50 exacerbações estão sumarizadas na tabela 2. Não houve diferenças estatísticas significativas nos parâmetros clínicos e fisiológicos avaliados. A presença de escarro com caráter purulento foi similar nos grupos eosinofílico e não-eosinofílico sendo 37.8% e 38.5%, respectivamente. Em 9 exacerbações houve associação com sinusite sendo sua presença similar em ambos os grupos, 16.2% no grupo eosinofílico e 23.1% no não-eosinofílico. Um paciente de cada grupo apresentou associação da exacerbação com pneumonia. O uso de antibióticos associados ao corticosteróide oral foi semelhante nos dois grupos sendo 27% no grupo eosinofílico e 23.1% no grupo não-eosinofílico.

TABELA 2 - Características das exacerbações moderadas a graves de asma do tipo eosinofílico e não-eosinofílico na V1.

	Eosinofílico	Não-eosinofílico	Total	p
Exacerbações, n (%)	37 (74)	13 (26)	50 (100)	---
Duração, dias*	13.54 (11.6)	11.46 (11.7)	13 (11.5)	NS
Sintomas de asma:				
Sintomas diurnos, n (%)	36 (97.3)	12 (92.3)	48 (96.0)	NS
Sintomas noturnos, n (%)	33 (89.2)	13 (100.0)	46 (92.0)	NS
Tosse, n (%)	30 (81.1)	10 (76.9)	40 (80.0)	NS
Presença de escarro, n (%)	23 (62.2)	7 (53.8)	30 (60.0)	NS
Escore de sintomas*	20.86 (5.90)	22.77 (6.3)	21.36 (6.0)	NS
Escore gripe/resfriado**	8.86 (6.5)	13.0 (8.1)	9.94 (7.0)	NS
Uso de BD, µg/dia*	716 (490)	523 (470)	666 (480)	NS
Escore do QCA*	3.56 (1.0)	3.04 (1.0)	3.42 (1.0)	NS
VEF₁pBDL*	1.68 (0.5)	1.78 (0.6)	1.71 (0.5)	NS
VEF₁pBD% previsto*	51.24 (11.7)	55.23 (9.4)	52.28 (11.2)	NS
EOS escarro, %**	36.75(45.5)	0.75 (1.25)	14.5 (52.4)	0.000
EOS sangue, x 10⁹/L*	0.85 (0.5)	0.45 (0.5)	0.74 (0.5)	0.036

Dados expressos pela * média e desvio padrão (DP) e ** mediana e amplitude do semiquartil; n = número absoluto; % = percentual; BD = broncodilatador; QCA = questionário de controle de asma; VEF₁pBDL = volume expiratório forçado no 1 segundo pós-broncodilatador em litros; VEF₁pBD% = volume expiratório forçado no 1 segundo pós-broncodilatador em percentual EOS = eosinófilos; p = significância entre os grupos eosinofílico versus não-eosinofílico; NS = não significativo. Valores de VEF₁% de acordo com valores preditos de Crapo²⁸.

A tabela 3 sumariza os resultados dos parâmetros clínicos, fisiológicos e inflamatórios encontrados na V2. Com exceção da proporção de eosinófilos no escarro, não houveram diferenças significativas entre os dois grupos nas demais medidas avaliadas. A concordância entre a presença de eosinofilia no escarro e no sangue medida pelo índice Kappa foi de 0.6, indicando uma concordância moderada.

TABELA 3 – Parâmetros clínicos, fisiológicos e inflamatórios das exacerbações moderadas a graves de asma do tipo eosinofílico e não-eosinofílico na V2.

	Eosinofílico	Não-eosinofílico	Total	p
Escore do QCA*	2.01 (0.9)	2.50 (1.0)	2.14 (0.9)	NS
Uso de BD, µg/dia *	568 (30)	538 (390)	560 (360)	NS
VEF₁pBDL*	2.37 (0.7)	2.03 (0.8)	2.28 (0.8)	NS
VEF₁pBD% previsto*	71.45 (15.1)	63.08 (13.3)	69.30 (15.0)	NS
EOS escarro, %**	1.5 (4.5)	0.15 (0.6)	1.0 (2.1)	0.031
EOS sangue, x 10⁹/L*	0.25 (0.2)	0.25 (0.2)	0.25 (0.2)	NS

Dados expressos pela * média e desvio padrão (DP); ** mediana e amplitude do semi-quartil (ASQ). QCA = questionário de controle de asma; BD = broncodilatador; VEF₁pBDL = volume expiratório forçado no 1 segundo pós-broncodilatador em litros; VEF₁pBD% = volume expiratório forçado no 1 segundo pós-broncodilatador em percentual; EOS = eosinófilos; p = significância entre os grupos eosinofílico versus não-eosinofílico; NS = não significante. Valores de VEF₁% de acordo com valores preditos de Crapo²⁸.

Das 50 exacerbações estudadas, 37 (74%) foram caracterizadas como do grupo eosinofílico e as outras 13 (26%) foram caracterizadas como do grupo não-eosinofílico. Duas (5.4%) exacerbações eosinofílicas apresentaram neutrofilia associada, caracterizada por uma concentração ≥ 65% de neutrófilos no escarro. Em contraste, 7 (53.8%) exacerbações não-eosinofílicas também apresentaram inflamação neutrofílica.

Analisando a resposta ao tratamento (V2 – V1), observou-se que nas exacerbações eosinofílicas, a exceção do uso de BD inalterado do ponto de vista estatístico, houve melhora significativa do escore do QCA, dos valores de VEF₁ em litros e em percentual e melhora dos padrões inflamatórios através da diminuição da proporção de eosinófilos no escarro e número absoluto de eosinófilos no sangue. Quando os mesmos parâmetros foram avaliados nas exacerbações não-eosinofílicas, notou-se melhora do escore do QCA, melhora dos valores de VEF₁ em litros e em percentual e diminuição da proporção de eosinófilos no escarro de forma significativa. O uso de BD e o número absoluto de eosinófilos no sangue não apresentaram diferenças significativas.

Ao comparar o grupo eosinofílico com o grupo não-eosinofílico, excetuando o uso de BD sem significância estatística, constatou-se que no primeiro grupo a melhora do escore do QCA e dos valores de VEF₁ em litros e em percentual foi mais expressiva. Da mesma forma, a diminuição da proporção de eosinófilos no escarro e do número absoluto de eosinófilos no sangue foi significativa e mais evidente no grupo eosinofílico. As diferenças das respostas entre V2 e V1 nas exacerbações moderadas a graves de asma em ambos os grupos estão sumarizadas na tabela 4, figuras 1, 2 e 3.

TABELA 4 - Diferenças das respostas nas exacerbações moderadas a graves de asma do tipo eosinofílico e não-eosinofílico entre V2 e V1.

	Eosinofílico	Não-eosinofílico	Total	p
Escore do QCA	-1.55 (1.1)*	-0.54 (0.9)**	-1.29 (1.2)*	0.006
Uso de BD, µg/dia	-149 (460) NS	15.4 (640)NS	-106 (511)NS	NS
VEF₁pBDL	0.69 (0.6)*	0.25 (0.3)**	0.57 (0.5)*	0.012
VEF₁pBD% previsto	20.22 (17.1)*	7.85 (8.8)**	17.0 (16.2)*	0.017
EOS escarro, %	-34.18 (25.2)*	-0.51 (0.7)**	-25.25 (26.3)*	0.000
EOS sangue, x 10⁹/L	-578 (370)*	-44.6 (151)NS	-426 (403)*	0.001

Dados expressos pela média e desvio padrão. QCA = questionário de controle de asma; BD = broncodilatador; VEF₁pBDL = volume expiratório forçado no 1º segundo pós-broncodilatador em litros; VEF₁pBD% = volume expiratório forçado no 1º segundo pós-broncodilatador em percentual; EOS = eosinófilos; p= significância entre os grupos eosinofílico versus não-eosinofílico; * = p = 0.000; ** = p ≤ 0.05; NS = não significante. Valores de VEF₁% de acordo com valores preditos de Crapo²⁸.

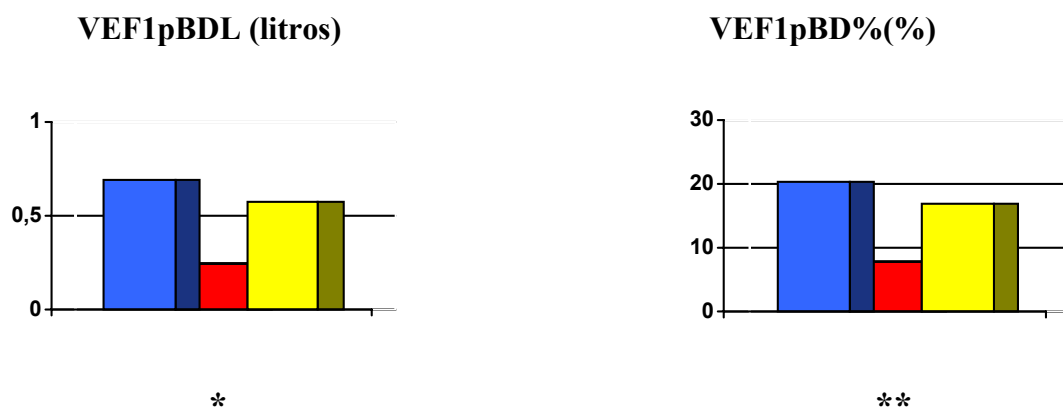
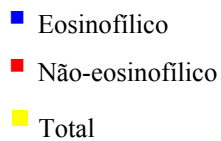


Figura 2. Média das diferenças (V2 – V1) do VEF1pBDL e VEF1pBD% nas exacerbações moderadas a graves de asma do tipo eosinofílico, não-eosinofílico e total. * $p = 0.012$; ** $p = 0.017$ (significância entre os grupos eosinofílico versus não-eosinofílico).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, investigou-se a resposta à corticoterapia sistêmica oral por sete dias em 50 episódios de exacerbações moderadas a graves de asma. Demonstrou-se significativa resposta à corticoterapia medida por parâmetros como o escore do QCA, VEF₁pBD em litros ou valor percentual independentemente da presença de eosinofilia no escarro. Estes achados estão em concordância com a atual prática clínica, onde se preconiza o uso de corticosteróides sistêmicos para o tratamento de exacerbações agudas e de intensidade moderada ou grave. Por outro lado quando analisadas de forma separada, a resposta terapêutica das exacerbações eosinofílicas foi significativamente superior àquela observada nas exacerbações não-eosinofílicas. A presença de uma resposta terapêutica discriminada quando analisa-se o perfil inflamatório da exacerbação não foi mencionada previamente na literatura e a implicação deste achado necessita ser discutida e melhor pesquisada.

A qualidade da obtenção dos dados deste estudo foi garantida pela seleção de um grupo significativo e homogêneo de 46 indivíduos com um episódio de gravidade considerável, para os quais é necessário o uso de corticoterapia sistêmica. A resposta à intervenção terapêutica foi avaliada através da mensuração de desfechos de importância clínica para o paciente, como a medida dos sintomas e o uso de broncodilatador de curta duração expressos no QCA e através da medida de parâmetros objetivos como a intensidade da limitação ao fluxo de ar das vias aéreas, medida pelo VEF₁ pós-broncodilatador. Adicionalmente, mediu-se a resposta inflamatória das vias aéreas no curso de tais exacerbações e a resposta à intervenção com corticosteróides sistêmicos.

Uma das fraquezas do estudo foi a não caracterização da causa das exacerbações. Embora isto pudesse ser inferido clinicamente, esta suposição é de longe inacurada. Para uma melhor caracterização da natureza das exacerbações seria necessária a obtenção de culturas de escarro e outras secreções respiratórias para bactérias patogênicas e mais ainda, o isolamento de vírus nas secreções do aparelho respiratório. Estudos anteriores comprovaram o papel de infecções

virais relacionadas a exacerbações dos sintomas de asma no curso de episódios caracterizados clinicamente como gripais. Nesta situação observou-se a presença de uma resposta inflamatória distinta, não eosinofílica, com neutrofilia discreta e aumento da permeabilidade vascular das vias aéreas, medida por elevadas concentrações de fibrinogênio na fase líquida do sobrenadante do escarro ²⁰. Outros pontos que poderiam diminuir a importância do estudo estariam limitados ao tempo de intervenção de 7 dias e a dose e tipo de corticosteróide utilizado neste estudo. Contudo, diversos estudos clínicos anteriores sugerem resposta terapêutica máxima ao redor do sétimo dia e utilizam uma dosagem e apresentação farmacológica de corticosteróide sistêmico variável ¹⁶.

A utilização de um método direto para medir o processo inflamatório das vias aéreas, como o exame do escarro induzido vem ganhando espaço na pesquisa clínica e em alguns casos na prática médica na avaliação de asmáticos. Jayaram e colaboradores relataram em artigo de revisão a importância do exame de escarro em caracterizar a resposta inflamatória de asmáticos em diferentes situações, controlados ou exacerbados, tratados ou virgens de tratamento. Eles concluíram que na asma, como clinicamente definida, existe uma diversidade do processo inflamatório, com situações de resposta eosinofílica ou não- eosinofílica ³⁶. A aplicabilidade clínica da monitoração do processo inflamatório das vias aéreas através do exame do escarro foi investigada prospectivamente por Green e colaboradores em um estudo clínico controlado. Eles investigaram o valor do exame do escarro em modificar a conduta clínica preconizada e compararam esta conduta àquela baseada em parâmetros clínicos e fisiológicos como determinada pelos consensos de tratamento da asma. O principal desfecho do estudo foi a frequência de exacerbações no curso de um ano. Os participantes que foram randomizados para modificar o tratamento de acordo com o exame do escarro apresentaram um número significativamente menor de exacerbações e utilizaram um dose de corticosteróide similar ao grupo referência para o controle da asma ³⁷.

O Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas (NUPAIVA/UFSC) é pioneiro no Brasil e na América do Sul nesta metodologia. Neste estudo, utilizou-se um protocolo modificado de indução de escarro para aumentar sua segurança em indivíduos com

exacerbações graves de asma ¹⁶. A maioria dos pacientes forneceu amostra adequada e não apresentou intercorrências durante o procedimento. A taxa de insucesso de dois pacientes sem obtenção de escarro foi considerada aceitável. As amostras foram processadas com escarro selecionado da saliva com objetivo de minimizar a contaminação celular ¹⁵. A utilização do escarro induzido neste estudo permitiu uma monitoração direta e com riscos aceitáveis da inflamação das vias aéreas nas exacerbações de asma através da análise celular e de outros marcadores pró-inflamatórios. A partir da análise do escarro dos participantes do estudo, caracterizou-se dois grupos considerando-se o tipo de inflamação encontrada: eosinofílicos com proporção de eosinófilos $\geq 3\%$ e não-eosinofílicos com proporção de eosinófilos $< 3\%$ ³⁴.

Diversos estudos usando o exame do escarro induzido demonstraram que a maioria dos asmáticos virgens de tratamento apresenta um processo inflamatório tipicamente relacionado à bronquite eosinofílica ³⁸. Contudo, um número ainda indefinido de pacientes sintomáticos que varia de estudo para estudo, com valores próximos a 40%, apresenta contagem eosinofílica dentro do intervalo de normalidade ^{12, 15}. O presente estudo reforça esta observação, porém em uma situação distinta, durante o curso de exacerbações asmáticas. Nesta população evidenciou-se que 26% dos episódios foram não-eosinofílicos.

De maneira geral, as exacerbações moderadas a graves de asma independente do tipo inflamatório encontrado nas vias aéreas apresentam melhora da sintomatologia e melhora da função pulmonar com o uso de corticosteróide sistêmico ^{22, 25}. Contudo, a prática clínica demonstra que nem todos os pacientes se beneficiam de modo homogêneo ao tratamento instituído. Existem evidências sugerindo que alguns indivíduos apresentam melhora mais acentuada do que outros. Não é possível, baseado em parâmetros clínicos e fisiológicos, prever quais indivíduos vão apresentar uma resposta mais satisfatória ao tratamento e quais e quantos não se beneficiarão da intervenção. Neste estudo partiu-se do pressuposto de que exacerbações asmáticas não-eosinofílicas se beneficiariam menos à intervenção com corticosteróides sistêmicos.

Ao comparar a resposta à corticoterapia sistêmica oral por 7 dias em exacerbações moderadas a graves de asma do grupo eosinofílico com a do grupo não-eosinofílico, percebeu-se que o tratamento com corticosteróide melhorou asmáticos com exacerbação eosinofílica de forma mais significativa através dos parâmetros investigados. Esta observação foi inicialmente hipotetizada por um achado fortuito de um estudo anterior realizado por Pizzichini e colaboradores. Neste estudo investigou-se a cinética da resposta ao tratamento com prednisona em 10 episódios de exacerbações graves de asma. Um único indivíduo não apresentou processo eosinofílico e não apresentou resposta eficaz medida por mudança no VEF₁ à corticoterapia utilizada ¹⁶. Adicionalmente, Pavord e colaboradores demonstraram que asmáticos sintomáticos não controlados com uma resposta não-eosinofílica apresentaram uma resposta mais pobre aos corticosteróides inalatórios ¹³. Estas observações suportaram a hipótese de que escarro eosinofílico tem grande relação com o grau de resposta à corticoterapia e atualmente uma série de estudos vêm sendo realizados a fim de responder esta questão de forma mais clara e definitiva ³⁹.

As características clínicas e fisiológicas das exacerbações asmáticas durante a inclusão, sem qualquer intervenção, não permitiram discriminar os participantes com inflamação eosinofílica ou não-eosinofílica. Os achados de inflamação eosinofílica e não-eosinofílica no escarro e no sangue periférico, representam diferenças esperadas, pois elas apenas representam um ponto de corte escolhido para dividir os participantes. Esta ausência de diferença estatística significativa na sintomatologia, infecções associadas, uso de medicações e valores espirométricos enfatiza a necessidade de se medir valores inflamatórios como através do escarro para discriminar melhor os respondedores dos não respondedores ao tratamento com corticosteróide.

Quando se agrupam as exacerbações como eosinofílicas e não-eosinofílicas, é possível se observar uma diferente resposta à intervenção com corticosteróide sistêmico. No presente estudo os indivíduos com exacerbação não-eosinofílica apresentaram uma resposta clinicamente pobre a esta intervenção apesar de apresentar diferença estatística significativa.

Este achado levanta a hipótese de que indivíduos exacerbados com este padrão inflamatório não apresentam o benefício esperado quando do uso de corticosteróides sistêmicos orais.

Estudos futuros seriam necessários no sentido de investigar a evolução clínica das exacerbações de asma de padrão não-eosinofílico no escarro, questionando a necessidade do uso de corticoterapia, uma vez que neste estudo o grupo em questão apresentou uma melhora clínica desprezível. Estudos envolvendo novas alternativas terapêuticas que resultem em uma melhora clínica expressiva de asmáticos exacerbados sem evidência de eosinofilia no escarro também seriam pertinentes.

7. REFERÊNCIAS

1. Rizzo JA. Conceitos recentes na fisiopatologia da asma. Congress Update 2001 2001/03/16:6-9.
2. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. J de Pneumol 2002;28 (supl 1):6s-8s.
3. Viegi G., Annesi I., Matteelli G. Epidemiology of asthma. In: Eur Respir Mon; 2003, 23; 1: p. 1-25.
4. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). Eur Respir J 1998;12(2):315-35.
5. Brasil. Ministério da saúde. Morbidade hospitalar do SUS de jan/1995 a nov/2001.
6. Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention. In: Washington: National Heart, Lung and Blood Institute, NIH publication 96-3659; 1995. p. 1-176.
7. Osler W. In: Appleton, editor. The Principals and Practice of Medicine. New York; 1892. p. 497.
8. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CR, Twentyman OP, Howarth RH, et al. Mucosal inflammation in asthma. Am Rev Respir Dis 1990;142(2):434-57.
9. Busse WW, Lemanske RF, Jr. Asthma. N Engl J Med 2001;344(5):350-62.
10. Barnes PJ, Grusnstein MM, Leff AR, Woolcock AJ. Asthma. Philadelphia: Lippincot-Raven; 1997.
11. Kips JC, Kharitonov SA, Barnes PJ. Noninvasive assessment of airway inflammation in asthma. In: Eur Respir Mon; 2003, 23; 1: p. 164-179.
12. Pavord ID, Pizzichini MM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to

investigate airway inflammation. *Thorax* 1997;52(6):498-501.

13. Pavord ID, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet* 1999;353(9171):2213-4.
14. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hargreave FE. Induced sputum in the management of asthma. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 1998;19(6):581-592.
15. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154(2 Pt 1):308-17.
16. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155(5):1501-8.
17. Wardlaw AJ, Brightling C, Green R, Woltmann G, Pavord I. Eosinophils in asthma and other allergic diseases. *Br Med Bull* 2000;56(4):985-1003.
18. Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323(15):1033-9.
19. Turner MO, Hussack P, Sears MR, Dolovich J, Hargreave FE. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax* 1995;50(10):1057-61.
20. Pizzichini MM, Pizzichini E, Efthimiadis A, Chauhan AJ, Johnston SL, Hussack P, et al. Asthma and natural colds. Inflammatory indices in induced sputum: a feasibility study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(4):1178-84.
21. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95(4):843-52.
22. Meijer RJ, Kerstjens HA, Postma DS. Comparison of guidelines and self-management plans in asthma. *Eur Respir J* 1997;10(5):1163-72.

23. The British Guidelines on Asthma Management. 1995 Review and Positioning Statement. *Thorax* 1997;52 (Suppl. 1):s1-s21.
24. National Heart, Lung and Blood Institute. New NHLBI Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. *Lippincott Health Promot Lett*; 1997; 2:9.
25. Murray PT, Corbridge T. Pharmacotherapy of acute asthma. In: *Acute asthma assessment and management*. McGraw Hill; 2000.
26. Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158(5 Pt 1):1511-7.
27. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Pavord I, Dolovich J, et al. Prednisone-dependent asthma: inflammatory indices in induced sputum. *Eur Respir J* 1999;13(1):15-21.
28. Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981;123(6):659-64.
29. Calhoun WJ, Dick EC, Schwartz LB, Busse WW. A common cold virus, rhinovirus 16, potentiates airway inflammation after segmental antigen bronchoprovocation in allergic subjects. *J Clin Invest* 1994;94(6):2200-8.
30. Marks GB, Dunn SM, Woolcock AJ. A scale for the measurement of quality of life in adults with asthma. *J Clin Epidemiol* 1992;45(5):461-72.
31. Juniper EF, Guyatt GH, Ferrie PJ, Griffith LE. Measuring quality of life in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147(4):832-8.
32. Juniper EF, O'Byrne PM, Guyatt GH, Ferrie PJ, King DR. Development and validation of a questionnaire to measure asthma control. *Eur Respir J* 1999;14(4):902-7.
33. Standardization of spirometry--1987 update. Statement of the American Thoracic

Society. *Am Rev Respir Dis* 1987;136(5):1285-98.

34. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(2 Pt 1):475-8.
35. Altman DG. Inter-rater agreement. In: Altman DG, editor. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall; 1991. p. 403-405.
36. Jayaram L, Parameswaran K, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts: their usefulness in clinical practice. *Eur Respir J* 2000;16(1):150-8.
37. Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360(9347):1715-21.
38. Sande Lee SV, Pizzichini MMM, Marques LJ, Ferreira SC, Pizzichini E. Inflamação das vias aéreas em asmáticos virgens de tratamento com esteróides: características do escarro induzido. *J Pneumol* 2003;29:188-195.
39. Pizzichini MM. Is sputum eosinophilia a good or poor predictor of benefit from inhaled corticosteroid therapy in asthma? *Eur Respir J* 2002;20(6):1359-61.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi digitado de acordo com as normas de resolução número 001/2001 do colegiado do Curso em Graduação de Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, terceira edição.

